5 月 May
2020，63(5)：565－573
昆 虫 学 报
ACTA ENTOMOLOGICA SINICA
http：//www. insect. org. cn
doi：10. 16380/j. kcxb. 2020. 05. 005

三种杀虫剂亚致死剂量对草地贪夜蛾细胞色素 P450 基因表达的影响

张百重[1,#]，苏　栩[1,#]，卢留洋[1]，甄丛爱[2]，朱　斌[2]，李亚设[1]，董文阳[2]，汪　耿[1]，胥燕博[1]，孔凡彬[1]，刘润强[1]，陈锡岭[1,*]，高希武[2,*]

（1. 河南科技学院资源与环境学院，河南新乡 453003；2. 中国农业大学昆虫学系，北京 100193）

摘要：【目的】为明确杀虫剂亚致死剂量对草地贪夜蛾 *Spodoptera frugiperda* 细胞色素 P450 基因表达的影响。【方法】本研究采用叶片浸渍法测定了 3 种杀虫剂［氯虫苯甲酰胺、甲氨基阿维菌素苯甲酸盐和苏云金杆菌 *Bacillus thuringiensis*（Bt）］对草地贪夜蛾 2 龄幼虫的毒力，以及通过实时荧光定量 PCR（real-time quantitative PCR，RT-qPCR）技术测定了这 3 种杀虫剂亚致死剂量（LC_{10}）处理后48 h时草地贪夜蛾 2 龄幼虫 16 个 P450 基因的表达量。【结果】氯虫苯甲酰胺、甲氨基阿维菌素苯甲酸盐和 Bt 对草地贪夜蛾 2 龄幼虫的 LC_{10} 值分别为 0.931，0.283 和 1 089.688 mg/L。2 龄幼虫受 LC_{10} 氯虫苯甲酰胺胁迫后，13 个 P450 基因（*CYP4G75*，*CYP6AB12*，*CYP6B50*，*CYP321A7*，*CY321A8*，*CYP321A9*，*CYP321A10*，*CYP321B1*，*CYP337B5*，*CYP9A59*，*CYP9A58*，*CYP6AE44* 及 *CYP6AE43*）表达上调，其中 *CYP6AE44* 表达量为对照的 34.60 倍；2 龄幼虫受 LC_{10} 甲维盐胁迫后，11 个 P450 基因（*CYP4G75*，*CYP6AB12*，*CYP321A7*，*CY321A8*，*CYP321A9*，*CYP321A10*，*CYP321B1*，*CYP337B5*，*CYP9A58*，*CYP6AE44* 及 *CYP6AE43*）表达上调，其中 *CYP321B1* 表达量为对照的 28.70 倍；2 龄幼虫受 LC_{10} Bt 胁迫后，11 个 P450 基因（*CYP4G75*，*CYP6AB12*，*CYP6AN4*，*CYP321A7*，*CY321A8*，*CYP321A9*，*CYP321A10*，*CYP321B1*，*CYP337B5*，*CYP6AE44* 及 *CYP6AE43*）表达上调，其中 *CYP6AE44* 表达量为对照的 40.80 倍。【结论】草地贪夜蛾 2 龄幼虫的多个 P450 基因受这 3 种杀虫剂亚致死剂量处理后表达上调，其中 *CYP4G75*，*CYP6AB12*，*CYP321A7*，*CY321A8*，*CYP321A9*，*CYP321A10*，*CYP321B1*，*CYP321B5*，*CYP6AE44* 及 *CYP6AE43* 均能被这 3 种杀虫剂诱导表达。

关键词：草地贪夜蛾；细胞色素 P450；杀虫剂；苏云金杆菌；基因表达；亚致死剂量

中图分类号：S481　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：0454-6296(2020)05-0565-09

Effects of three insecticides at the sublethal dose on the expression of cytochrome P450 genes in *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae)

ZHANG Bai-Zhong[1,#], SU Xu[1,#], LU Liu-Yang[1], ZHEN Cong-Ai[2], ZHU Bin[2], LI Ya-She[1], DONG Wen-Yang[2], WANG Geng[1], XU Yan-Bo[1], KONG Fan-Bin[1], LIU Run-Qiang[1], CHEN Xi-Ling[1,*], GAO Xi-Wu[2,*] (1. College of Resources and Environment, Henan Institute of Science and Technology, Xinxiang, Henan 453003, China; 2. Department of Entomology, China Agricultural University, Beijing 100193, China)

Abstract:【Aim】To determine the effects of insecticides at the sublethal dose on the expression of

基金项目：国家重点研发计划(2018YFD0200600)；河南科技学院大学生百农英才创新项目(BNYC2018-2-57)

作者简介：张百重，男，1984 年 8 月生，河南兰考人，博士，研究方向为杀虫剂毒理学，E-mail：baizhongok@163.com；苏栩，男，1995 年 8 月生，河南太康人，硕士，研究方向为昆虫毒理学，E-mail：suxu163@yeah.net

[#]共同第一作者 Authors with equal contribution

[*]通讯作者 Corresponding authors，E-mail：chenxiling@hist.edu.cn；gaoxiwu@263.net.cn

收稿日期 Received：2019-11-18；接受日期 Accepted：2020-02-18

cytochrome P450 genes in the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*. 【Methods】The toxicity of three insecticides (chlorantraniliprole, emamectin benzoate and *Bacillus thuringiensis*) against the 2nd instar larvae of *S. frugiperda* was assayed by leaf-dipping method, and the transcriptional levels of 16 P450 genes in the 2nd instar larvae of *S. frugiperda* treated with the sublethal dose (LC_{10}) of the three insecticides were measured by real-time quantitative PCR (RT-qPCR) at 48 h post treatment. 【Results】The LC_{10} values of chlorantraniliprole, emamectin benzoate and *B. thuringiensis* against the 2nd instar larvae of *S. frugiperda* were 0.931, 0.283, and 1 089.688 mg/L, respectively. In the 2nd instar larvae exposed to the LC_{10} of chlorantraniliprole, 13 P450 genes including *CYP4G*75, *CYP6AB*12, *CYP6B*50, *CYP321A*7, *CY321A*8, *CYP321A*9, *CYP321A*10, *CYP321B*1, *CYP337B*5, *CYP9A*59, *CYP9A*58, *CYP6AE*44, and *CYP6AE*43 were up-regulated, and the transcription level of *CYP6AE*44 was 34.60-fold as high as that of the control. In the 2nd instar larvae exposed to the LC_{10} of emamectin benzoate, 11 P450 genes including *CYP4G*75, *CYP6AB*12, *CYP321A*7, *CY321A*8, *CYP321A*9, *CYP321A*10, *CYP321B*1, *CYP337B*5, *CYP9A*58, *CYP6AE*44, and *CYP6AE*43 were up-regulated, and the expression level of *CYP321B*1 was 28.70-fold as high as that of the control. In the 2nd instar larvae exposed to the LC_{10} of *B. thuringiensis*, 11 P450 genes including *CYP4G*75, *CYP6AB*12, *CYP6AN*4, *CYP321A*7, *CY321A*8, *CYP321A*9, *CYP321A*10, *CYP321B*1, *CYP337B*5, *CYP6AE*44, and *CYP6AE*43 were up-regulated, and the expression level of *CYP6AE*44 was 40.80-fold as high as that of the control. 【Conclusion】Multiple P450 genes are up-regulated in the 2nd instar larvae of *S. frugiperda* in response to the sublethal dose of the three insecticides, and the expressions of *CYP4G*75, *CYP6AB*12, *CYP321A*7, *CY321A*8, *CYP321A*9, *CYP321A*10, *CYP321B*1, *CYP321B*5, *CYP6AE*44, and *CYP6AE*43 are induced by all the three insecticides.

Key words: *Spodoptera frugiperda*; cytochrome P450; insecticide; *Bacillus thuringiensis*; gene expression; sublethal dose

草地贪夜蛾 *Spodoptera frugiperda* 是一种具有重大入侵性且危害严重的杂食性害虫,主要危害玉米、水稻、高粱、花生等作物(Goergen *et al.*, 2016; 刘杰等, 2019)。目前,草地贪夜蛾的防治手段仍以化学防治为主(Okuma *et al.*, 2018; Togola *et al.*, 2018; 赵胜园等, 2019)。Hardke 等(2011)报道氯虫苯甲酰胺、氰虫酰胺、氟虫双酰胺、乙基多杀菌素、茚虫威、高效氯氟氰菊酯、甲氧虫酰肼、双苯氟脲等对该害虫防治效果较好。2019 年我国推荐防治草地贪夜蛾的药剂有氯虫苯甲酰胺、甲氨基阿维菌素苯甲酸盐(甲维盐)、乙基多杀菌素、苏云金杆菌 *Bacillus thuringiensis* (Bt)等 25 种。氯虫苯甲酰胺、甲维盐及 Bt 作为目前防治鳞翅目害虫的主要药剂(潘有祥, 2005; Cordova *et al.*, 2006)。但在实际生产中,由于这些杀虫剂的长期不合理使用,部分害虫已产生不同程度的抗性,如小菜蛾 *Plutella xylostella* 田间种群对 Bt 抗性倍数高达 200 多倍、对氯虫苯甲酰胺抗性倍数高达 2 000 多倍(胡珍娣等, 2012; Wang and Wu, 2012; Wang *et al.*, 2013; 夏耀民等, 2013),粘虫田间种群对氯虫苯甲酰胺抗性倍数为 1.314 ~ 4.213 倍、对甲维盐抗性倍数为 1.000 ~ 4.385 倍(董杰等, 2014; Liu *et al.*, 2016),在巴西草地贪夜蛾田间种群已对 Bt 产生 10 倍以上的抗性(Monnerat *et al.*, 2015)。害虫对杀虫剂的抗性机制主要涉及靶标抗性和代谢抗性两方面。除靶标抗性外,解毒酶代谢活性增加将杀虫剂代谢成无毒或毒性较低产物是害虫产生抗药性的另一个重要方面(Francis *et al.*, 2006; 邱星辉, 2014; 李秀霞等, 2015)。杀虫剂通过影响害虫体内解毒酶相关基因的表达增加其代谢活性,从而增加害虫对杀虫剂的抗性(或耐药性)(陈澄宇等, 2015; Elzaki *et al.*, 2015)。

细胞色素 P450 是昆虫体内的重要代谢酶系之一,能够代谢多种内源和外源化合物(Zhu *et al.*, 2010; Riveron *et al.*, 2013; Edi *et al.*, 2014)。害虫 P450 酶活性能够被农药等外源化合物诱导升高,进而使昆虫适应多样化的环境(Van Pottelberge *et al.*, 2008; Yang *et al.*, 2015)。P450 基因表达被杀虫剂诱导上升是害虫产生抗药性的普遍机制(邱星辉, 2014)。研究表明,杀虫剂亚致死剂量可诱导 P450

活性上升，以及多个 P450 基因表达上调（徐鹿，2017；张琪慧等，2018；刘俊杰等，2019），进而促进其产生耐药性。我们前期研究表明，用杀虫剂的 LC_{10}处理草地贪夜蛾 2 龄幼虫 48 h 时对 P450 基因表达的诱导效应最好。氯虫苯甲酰胺、甲维盐及 Bt 作为防治草地贪夜蛾的主要有效药剂，研究氯虫苯甲酰胺、甲维盐及 Bt 亚致死剂量对草地贪夜蛾 P450 基因表达的诱导效应在评估其在害虫防治中的作用有着重要的意义。

因此，本研究根据 Giraudo 等（2015）报道的植物次生物质和杀虫剂对草地贪夜蛾 42 个 P450 基因表达影响的基础上，从中选择了可能被杀虫剂诱导表达的 16 个 P450 基因，而后采用实时荧光定量 PCR（real-time quantitative PCR，RT-qPCR）技术分析不同杀虫剂亚致死剂量对草地贪夜蛾 16 个 P450 基因表达的影响，以期为合理科学使用农药及深入开展研究草地贪夜蛾 P450 基因的功能和调控提供理论依据。

1　材料与方法

1.1　供试虫源

供试草地贪夜蛾来自云南农业大学植物保护学院昆虫病原体实验室馈赠，在温度 23 ~ 25℃、相对湿度 50% ~70%、光周期 17L∶7D 的条件下饲养于养虫笼中，采用玉米叶片和人工饲料饲养。

1.2　试剂与药品

RNA 提取试剂（TRIzol Reagent），美国 Invitrogen 公司产品；cDNA 反转录试剂盒（FastKing RT Kit）和 Pfu Taq DNA 合成酶，天根生化科技（北京）有限公司产品；qPCR 荧光染料 TB Green™ Premix ExTaq™ II、连接载体 pMD19-T、大肠杆菌 *Escherichia coli* DH5α 感受态细胞，日本 TaKaRa 公司产品；DNA 回收试剂盒、质粒提取试剂盒（EZNA Plasmid Mini Kit），美国 Omega 公司产品；98% 氯虫苯甲酰胺（chlorantraniliprole）原药，94% 甲维盐（emamectin benzoate）原药，来自深圳诺普信股份有限公司；32 000 IU/mg 苏云金杆菌（Bt），来自山东鲁抗生物农药有限责任公司；其余所用的化学试剂均为国产分析纯试剂。

Bio-Rad T100™ PCR 仪、PowerPac™ 电泳仪、CFX96 实时荧光定量 PCR 仪，美国 Bio-Rad 公司产品；凝胶成像系统 BG-gdsAUTO，北京百晶生物技术有限公司产品；Nano Photometer TMP-Class 微量核酸蛋白分析仪，德国 Implen 公司产品；引物由华大基因合成。

1.3　毒力测定

为确定处理草地贪夜蛾的杀虫剂亚致死剂量，采用叶片浸渍法（游灵等，2013；董杰等，2014）分别测定氯虫苯甲酰胺、甲维盐和苏云金杆菌（Bt）对草地贪夜蛾的毒力。先将氯虫苯甲酰胺和甲维盐原药分别用丙酮配制成母液，Bt 母液用含 0.05% Triton X-100 的蒸馏水配制，使用时再用蒸馏水含 0.05% Triton X-100 按等比稀释 5 个浓度，每个浓度 3 次重复。用移液枪分别吸取 2 mL 稀释后的药液加入到 4 mL 离心管中，另吸取 2 mL 蒸馏水包含 0.05% Triton X-100 加入到离心管中作为对照。将培养的 3 叶期玉米叶片剪成长 × 宽 = 5 cm × 0.5 cm 的长方形叶片在不同处理中浸渍 15 s，取出晾干后放入直径为 9 cm 的玻璃培养皿中，每个培养皿放入大小一致、健康的草地贪夜蛾 2 龄幼虫 15 头，置于温度 23 ~ 25℃、相对湿度 70% ~80%、光周期 14L∶10D 条件下的养虫室饲养，每个处理重复 3 次。48 h后观察和统计各处理草地贪夜蛾的死亡情况，用镊子拨动仍不活动可判断死亡。

1.4　RT-qPCR 测定 3 种杀虫剂处理后草地贪夜蛾 P450 基因的表达量

1.4.1　草地贪夜蛾样品药剂处理：用蒸馏水包含 0.05%（v/v）Triton X-100 分别将氯虫苯甲酰胺、甲维盐和 Bt 稀释成其相应的 LC_{10}浓度，将新鲜玉米叶片在药液中浸渍 15 s 后取出，以在蒸馏水包含 0.05%（v/v）Triton X-100 中浸渍 15 s 的玉米叶片为对照，晾干后将其放入培养皿中，每个培养皿放入 15 头健康的草地贪夜蛾 2 龄幼虫。48 h 后用离心管收集存活个体，立即浸入液氮，－80℃冷藏，备用。每个离心管收集 3 ~ 5 头试虫为一重复，每个处理设 3 个重复。

1.4.2　总 RNA 的提取：总 RNA 的提取用 Trizol 试剂提取，用 0.1% DEPC 处理的无菌水清洗 3 次，加入 1 mL Trizol，按照 Trizol、氯仿、异丙醇三步法提取，将所得总 RNA 溶解于经 DEPC 处理的水中。经检测，RNA 完整性（RIN）数值位于 6.7 ~ 7.6 之间，OD_{260}/OD_{280}值在 1.85 ~ 1.99 之间，这些结果表明 RNA 的完整性和纯度都是较高的，达到了反转录的要求。

1.4.3　cDNA 第 1 链的合成：根据 TaKaRa 公司的 Recombinant DNase Ⅰ（RNases-Free）使用说明书，在反转录前进行草地贪夜蛾总 RNA 的基因组 DNA 的

消化反应,cDNA 第 1 链的合成按 TaKaRa 公司反转录试剂盒(PrimeScript™ 1st Strand cDNA Synthesis Kit)说明进行,合成 qPCR cDNA 模板。

1.4.4 基因表达量测定:按照 Real Master Mix SYBR Green PCR Kit 操作说明书对 16 个 P450 基因进行 qPCR 验证,以 *GADPH* 为内参基因(de Souza, 2013; do Nascimento *et al*., 2015),16 个 P450 基因的引物见表 1,引物委托深圳华大基因股份有限公司合成。qPCR 反应体系(20 μL):cDNA 1.0 μL, SYBR Premix Ex Taq™ 10 μL,上下游引物(10 μmol/L)各0.4 μL, 50 × Rox Reference Dye Ⅱ 0.4 μL, ddH_2O 7.8 μL。qPCR 反应条件:95℃ 30 s; 95℃ 5 s, 55℃ 30 s, 循环 40 次。采用 7500 实时荧光定量 PCR 系统对数据进行分析,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算草地贪夜蛾细胞色素 P450 基因的相对表达量(Pfaffl, 2001)。

表 1 草地贪夜蛾 P450 基因和内参基因 qPCR 引物

Table 1 Primer pairs used for qPCR analysis of cytochrome P450 genes and a candidate housekeeping gene in *Spodoptera frugiperda*

基因 Gene	GenBank 登录号 GenBank accession number	引物序列(5′-3′) Primer sequence	退火温度(℃) Annealing temperature	扩增效率(%) Amplification efficiency	产物长度(bp) Product size
CYP4G75	KC789746.1	F: atgagctacacgactgcag R: gtttggccgcgagttcatat	55.40 55.40	97.5	148
CYP6AB12	KC789747.1	F: atgcagtctttagccggtct R: aatgcactgaaccacggaac	55.40 55.40	101.2	114
CYP6AN4	KC789748.1	F: cataagttcgcgtacctgcc R: aactgctgctaaccctgcta	57.45 55.40	92.8	96
CYP6B50	KC789749.1	F: acaatcttttccacgccgac R: ctcggttggcaagcatgtaa	55.40 55.40	99.1	111
CYP321A7	KC789750.1	F: aagtgctcaagacttcgtgc R: tgccgaagatagctccacaa	55.40 55.40	103.5	116
CY321A8	KC789751.1	F: cgctctttgtcatcgatccg R: tcggtcagttgatccccttc	57.45 57.45	96.8	106
CYP321A9	KC789752.1	F: gagatagagcctacgaccgg R: caacgtcgcatagatcgcat	59.50 55.40	101.3	96
CYP321A10	KC789753.1	F: gatagagccaacgaccggta R: aagatacagcgtcgcgtaga	57.45 55.40	92.5	100
CYP321B1	KC789754.1	F: gccatcgcgcatatcctaag R: cgtggaaccaactcgatgtc	57.45 57.45	95.1	112
CYP337B5	KJ671580.1	F: gttcgtgtttgggaagcagt R: tcagggtgcttgagaaggag	55.40 57.45	94.3	123
CYP9A60	KJ671579.1	F: tgtaccagcttcttcgggag R: cgaccagcctgttgttgaaa	57.45 55.40	104.6	96
CYP9A59	KJ671578.1	F: cacaagctccaagatacggc R: ttggcgtaacgtgttgtgag	57.45 55.40	100.8	144
CYP9A58	KJ671577.1	F: cctgttctttgtggctggtt R: agtcaaacttgccgccattt	55.40 53.35	90.2	143
CYP6AE44	KJ671576.1	F: gtgtgaccgagttgccttac R: aaatgcacgcgaagtccttt	57.45 53.35	106.9	145
CYP6AE43	KJ671575.1	F: atgcgtcgtcacaacaacaa R: cctcacgagtcaagttccct	53.35 57.45	97.6	118
CYP340L1	KC789755.1	F: atgtgccttgtcgctgtatg R: tatcgggattcagccatcgg	55.40 57.45	93.3	92
GADPH	KC262638.1	F: cggtgtcttcacaaccacag R: ttgacaccaacgacgaacat	57.45 53.35	98.9	111

1.5 数据分析

应用 Excel 2010 软件和 SPSS 19.0(SPSS Inc., Chicago, IL)对数据进行整理和统计分析,其中各处理的校正死亡率采用 SPSS 19.0 进行统计分析后通过 probit analysis 计算各杀虫剂对草地贪夜蛾的亚致死剂量,采用 Student 氏 *t* 检验法对 P450 基因表达数据进行差异显著性检验。

2　结果

2.1　3 种杀虫剂对草地贪夜蛾 2 龄幼虫的毒力

氯虫苯甲酰胺、甲维盐和 Bt 对草地贪夜蛾 2 龄幼虫的致死中浓度(LC_{50})分别为 2.087, 0.602 和 2 185.365 mg/L,对草地贪夜蛾 2 龄幼虫的 LC_{10} 分别为 0.931, 0.283 和 1 089.688 mg/L(表 2)。

表 2　氯虫苯甲酰胺、甲维盐和苏云金杆菌(Bt)对草地贪夜蛾 2 龄幼虫的毒力

Table 2　Toxicity of chlorantraniliprole, emamectin benzoate and *Bacillus thuringiensis* against the 2nd instar larvae of *Spodoptera frugiperda*

杀虫剂 Insecticides	斜率 ± 标准误 Slope ± *SE*	LC_{10} (mg/L)	LC_{50} (mg/L)	χ^2	自由度 Degree of freedom
氯虫苯甲酰胺 Chlorantraniliprole	3.656 ± 0.352	0.931 (0.739 – 1.105)	2.087 (1.839 – 2.369)	4.46	13
甲维盐 Emamectin benzoate	3.911 ± 0.396	0.283 (0.227 – 0.333)	0.602 (0.533 – 0.683)	7.819	13
苏云金杆菌 *Bacillus thuringiensis*	4.240 ± 0.150	1 089.688 (845.121 – 1 300.983)	2 185.365 (1 906.521 – 2 509.238)	6.093	13

幼虫平均体重为 9.58 mg/头;采用叶片浸渍法处理幼虫,处理后 48 h 时测定毒力。Average larval weight was 9.58 mg per larva. The larvae were treated by leaf-dipping method, and the toxicity was determined at 48 h post treatment.

2.2　杀虫剂对草地贪夜蛾 2 龄幼虫 P450 基因表达影响

首先根据设计引物进行 PCR 扩增,并通过 1% 琼脂糖凝胶电泳检测,以确定 PCR 扩增条带与目的条带大小一致,且只出现一条带,表明无引物二聚体情况出现,无非特异性扩增,符合荧光定量 PCR 的条件。选择草地贪夜蛾 2 龄幼虫样品提取总 RNA,以反转录所得的 cDNA 为模板按一定比例进行梯度稀释,内参基因 *GAPDH* 和 16 个 P450 基因分别按不同浓度模板进行 qPCR。结果表明,草地贪夜蛾内参基因 *GAPDH* 以及 16 个 P450 基因的扩增效率具有一致性(表 1)。

用 LC_{10} 氯虫苯甲酰胺处理草地贪夜蛾 2 龄幼虫 48 h 后,16 个 P450 基因,即 *CYP4G*75, *CYP6AB*12, *CYP6AN*4, *CYP6B*50, *CYP321A*7, *CY321A*8, *CYP321A*9, *CYP321A*10, *CYP321B*1, *CYP337B*5, *CYP9A*60, *CYP9A*59, *CYP9A*58, *CYP6AE*44, *CYP6AE*43 及 *CYP340L*1 的表达水平分别为对照的 3.58, 2.78, 0.83, 4.93, 8.85, 5.71, 15.30, 5.48, 8.55, 5.43, 0.60, 5.16, 3.65, 34.60, 3.52 及 0.43 倍(图 1);除了 *CYP6AN*4 表达不受氯虫苯甲酰胺影响以及 *CYP9A*60 和 *CYP340L*1 表达下调外,其余 13 个

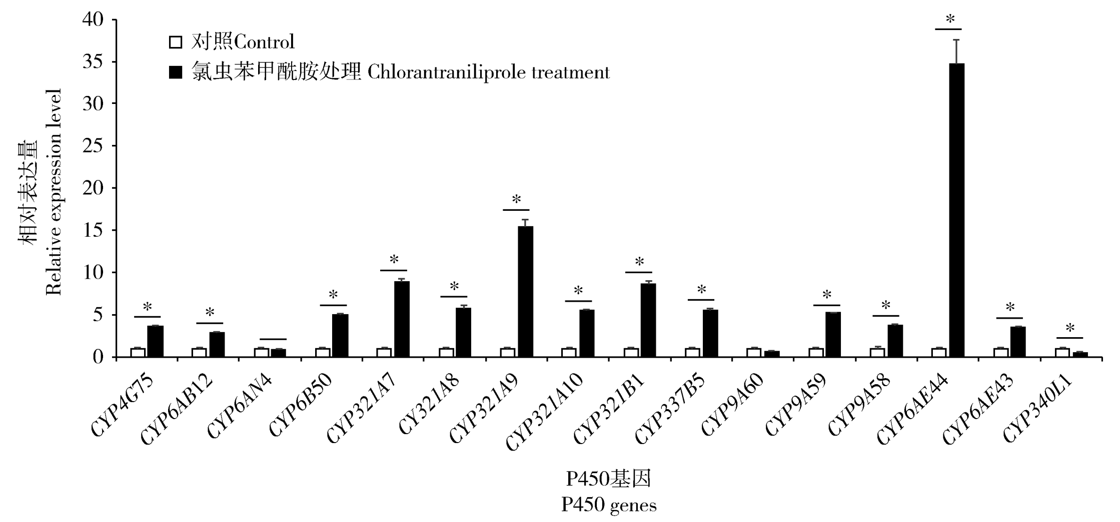


图 1　亚致死剂量(LC_{10})氯虫苯甲酰胺对草地贪夜蛾 2 龄幼虫 P450 基因表达的影响

Fig. 1　Effect of chlorantraniliprole at the sublethal dose (LC_{10}) on the expression of P450 genes in the 2nd instar larvae of *Spodoptera frugiperda*

用 LC_{10} 浓度(见表 2)农药采用浸渍法处理 2 龄幼虫, 48 h 后检测基因表达量。图中数据为平均数 ± 标准差;星号表示处理与对照(0.05% Triton X-100)间经 Student 氏 *t* 检验在 0.05 水平差异显著。The 2nd instar larvae were treated with pesticides at the LC_{10} concentration (as shown in Table 2) by leaf-dipping method, and the gene expression level was determined at 48 h post treatment. Data are mean ± *SD*. The asterisk indicates significant difference between the treatment and the control (0.05% Triton X-100) at the 0.05 level by Student's *t*-test. 图 2 和 3 同 The same for Figs. 2 and 3.

P450 基因表达均显著上调,其中 *CYP6AE*44 能被氯虫苯甲酰胺诱导最大值,为对照的 34.60 倍。

用 LC_{10} 甲维盐处理草地贪夜蛾 2 龄幼虫 48 h 后,16 个 P450 基因,即 *CYP4G*75, *CYP6AB*12, *CYP6AN*4, *CYP6B*50, *CYP321A*7, *CY321A*8, *CYP321A*9, *CYP321A*10, *CYP321B*1, *CYP337B*5, *CYP9A*60, *CYP9A*59, *CYP9A*58, *CYP6AE*44, *CYP6AE*43 及 *CYP340L*1 的表达水平分别为对照的 6.15, 2.13, 0.97, 1.28, 3.76, 8.58, 24.00, 3.41, 28.70, 5.41, 0.64, 0.80, 1.85, 8.71, 1.62 及 0.76 倍(图 2);除了 *CYP6AN*4, *CYP6B*50, *CYP9A*60, *CYP9A*59 及 *CYP340L*1 表达不受甲维盐影响外,其余 11 个 P450 基因表达均显著上调,其中 *CYP321B*1 能被甲维盐诱导出最大值,为对照的 28.70 倍。

用 LC_{10} Bt 处理草地贪夜蛾 2 龄幼虫 48 h 后,16 个 P450 基因,即 *CYP4G*75, *CYP6AB*12, *CYP6AN*4, *CYP6B*50, *CYP321A*7, *CY321A*8, *CYP321A*9, *CYP321A*10, *CYP321B*1, *CYP337B*5, *CYP9A*60, *CYP9A*59, *CYP9A*58, *CYP6AE*44, *CYP6AE*43 及 *CYP340L*1 表达水平分别为对照的 4.37, 2.87, 2.52, 0.31, 3.55, 15.30, 18.50, 5.53, 36.20, 19.60, 0.69, 1.18, 0.62, 40.80, 5.58 及 0.94 倍(图 3);除了 *CYP9A*60, *CYP9A*59 及 *CYP340L*1 表达不受 Bt 影响以及 *CYP6B*50 和 *CYP9A*58 表达下调外, 其余 11 个

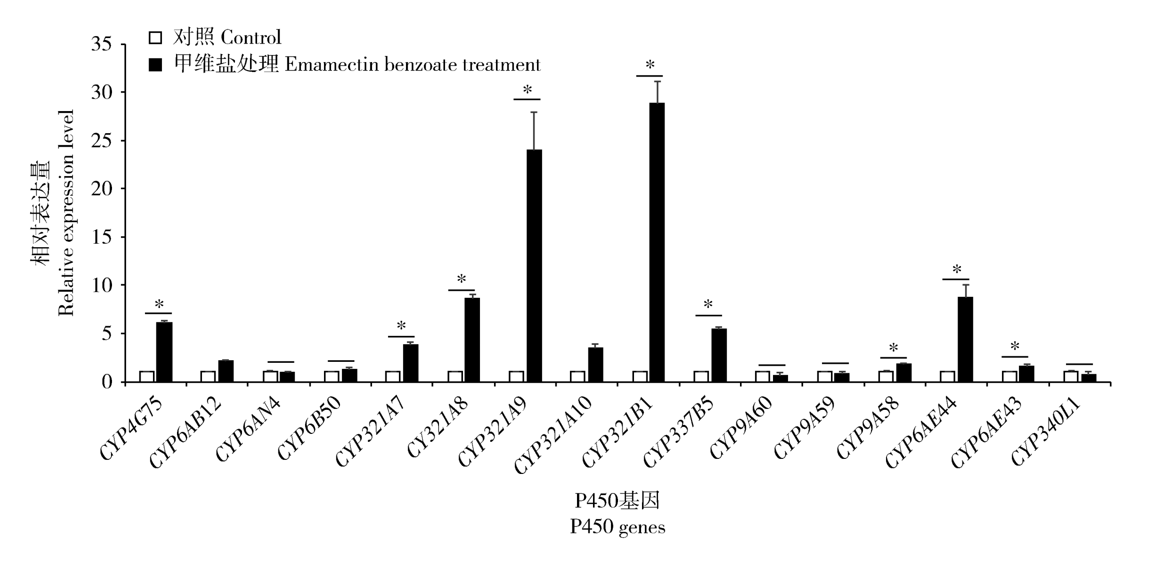


图 2 亚致死剂量(LC_{10})甲维盐对草地贪夜蛾 2 龄幼虫 P450 基因表达的影响

Fig. 2 Effect of emamectin benzoate at the sublethal dose (LC_{10}) on the expression of P450 genes in the 2nd instar larvae of *Spodoptera frugiperda*

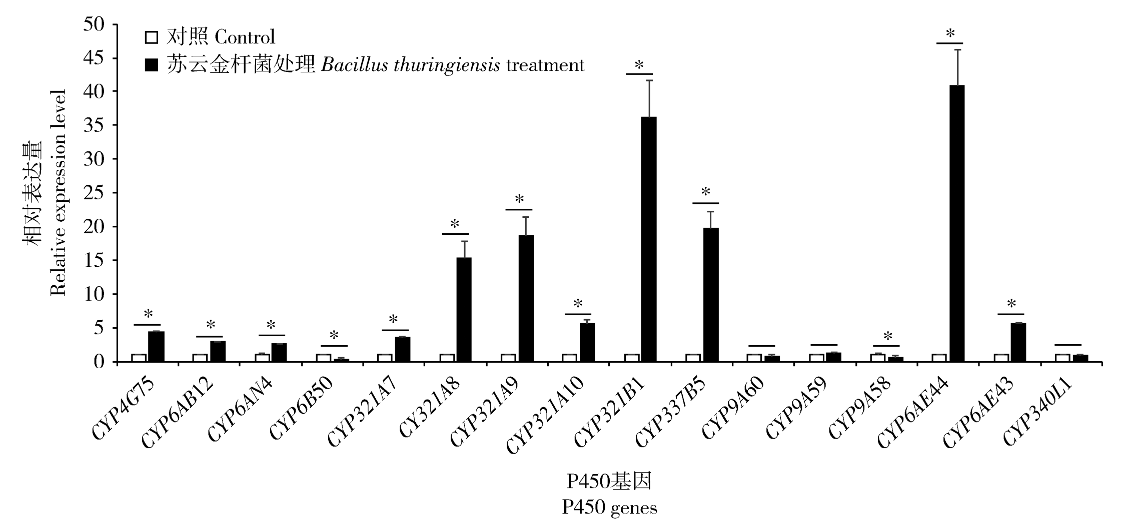


图 3 亚致死剂量(LC_{10})苏云金杆菌(Bt)对草地贪夜蛾 2 龄幼虫 P450 基因表达的影响

Fig. 3 Effect of *Bacillus thuringiensis* (Bt) at the sublethal dose (LC_{10}) on the expression of P450 genes in the 2nd instar larvae of *Spodoptera frugiperda*

P450 基因表达均显著上调,其中 *CYP6AE*44 能被 Bt 诱导最大值,为对照的 40.80 倍。

3 讨论

氯虫苯甲酰胺、甲维盐和 Bt 是广泛用于草地贪夜蛾防治的主要有效药剂(陈利民等, 2019; 王勇庆等, 2019),但随着这些药剂的大量使用,部分地区草地贪夜蛾已对其产生一定的抗性(Burtet *et al.*, 2017; Gutiérrez-Moreno *et al.*, 2018)。研究表明,细胞色素 P450 在草地贪夜蛾抗药性中发挥着重要作用,P450 诱导表达谱测定发现 CYP6B, CYP321A 和 CYP9A 等亚家族的多个基因被杀虫剂诱导表达,推测一些基因可能参与草地贪夜蛾对有毒物质的代谢(Giraudo *et al.*, 2015)。亚致死剂量下的杀虫剂对害虫产生一定的刺激效应,有助于害虫抗药性的发生。因此,为了进一步明确草地贪夜蛾 P450 基因能否被推荐的某些杀虫剂诱导,我们测定了亚致死剂量下的杀虫剂对草地贪夜蛾 P450 基因表达的影响,结果发现草地贪夜蛾响应氯虫苯甲酰胺、甲维盐和 Bt 胁迫上调的 P450 基因分别为 CYP3 家族和 CYP4 家族基因(Feyereisen, 2006),这些家族基因被认为与害虫抗药性最相关(Li *et al.*, 2018)。王学贵等(2015)研究结果显示,当用氯虫苯甲酰胺处理甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua* 后,P450 基因的过量表达可能参与甜菜夜蛾对氯虫苯甲酰胺的抗性。戴瀚洋等(2015)发现亚致死剂量甲维盐诱导甜菜夜蛾 *S. exigua* 时,甜菜夜蛾的 P450 基因及其他解毒酶基因响应杀虫剂胁迫上调表达。我们的测定结果亦是如此,13 个 P450 基因,即 *CYP4G*75, *CYP6AB*12, *CYP6B*50, *CYP321A*7, *CY321A*8, *CYP321A*9, *CYP321A*10, *CYP321B*1, *CYP337B*5, *CYP9A*59, *CYP9A*58, *CYP6AE*44 及 *CYP6AE*43 均能被氯虫苯甲酰胺显著诱导, 而 *CYP6AN*4, *CYP9A*60 及 *CYP340L*1 不能被诱导;11 个 P450 基因,即 *CYP4G*75, *CYP6AB*12, *CYP321A*7, *CY321A*8, *CYP321A*9, *CYP321A*10, *CYP321B*1, *CYP337B*5, *CYP9A*58, *CYP6AE*44 及 *CYP6AE*43 能被甲维盐显著诱导, 而 *CYP6AN*4, *CYP6B*50, *CYP9A*60, *CYP9A*59 及 *CYP340L*1 表达不受甲维盐影响;11 个 P450 基因, 即 *CYP4G*75, *CYP6AB*12, *CYP6AN*4, *CYP321A*7, *CY321A*8, *CYP321A*9, *CYP321A*10, *CYP321B*1, *CYP337B*5, *CYP6AE*44 及 *CYP6AE*43 能被 Bt 显著诱导,而 *CYP9A*60, *CYP9A*59, *CYP340L*1, *CYP6B*50 及 *CYP9A*58 不能被 Bt 诱导。其中 10 个 P450 基因, 即 *CYP4G*75, *CYP6AB*12, *CYP321A*7, *CY321A*8, *CYP321A*9, *CYP321A*10, *CYP321B*1, *CYP337B*5, *CYP6AE*44 及 *CYP6AE*43 能够被 3 种杀虫剂同时诱导,推测其可能是广谱性的 P450 基因,具有响应杀虫剂的多重选择压力的功能。而 *CYP6B*50 和 *CYP9A*59 只能被氯虫苯甲酰胺诱导; *CYP6AN*4 只能被 Bt 诱导;推测其可能是专一性的 P450 基因。不同 P450 基因成员的底物不同,但它们之间可能存在重叠以适应环境的变化,多个 P450 基因表达响应杀虫剂等外源化合物诱导的同时均有可能用于响应杀虫剂的选择压力,表现出进化的可塑性(邱星辉, 2014)。此外,P450 基因表达的可诱导性是代谢抗性产生的重要方式(陈秋霞, 2001; 张百重等, 2018; 朱英慧, 2018)。而 Giraudo 等(2015)研究表明,草地贪夜蛾 CYP6B, CYP321A 和 CYP9A 亚家族基因能被植物化学品诱导,只有少量 P450 基因能被杀虫剂诱导,这部分 P450 基因大多属于 CYP9A 家族基因, 药剂种类、处理剂量、P450 的专一性和普遍性、基因表达检测方法可能是造成结果不一致的重要因素,但具体原因需进一步研究。

氯虫苯甲酰胺、甲维盐和 Bt 作为目前防治玉米田鳞翅目害虫的主要有效药剂。因此,本研究阐述了亚致死剂量氯虫苯甲酰胺、甲维盐和 Bt 对草地贪夜蛾 P450 基因表达的影响,揭示草地贪夜蛾 P450 基因表达在杀虫剂胁迫下的可诱导性,为 P450 解毒酶参与害虫抗药性形成的机制提供基础资料。但受 3 种杀虫剂诱导上调表达的 P450 基因能否对杀虫剂代谢解毒,还需结合单一的 P450 蛋白异源表达和体外代谢及 RNAi 等方法进一步验证其功能。

参考文献(References)

Burtet LM, Bernardi O, Melo AA, Pes MP, Strahl TT, Guedes JV, 2017. Managing fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae), with Bt maize and insecticides in southern Brazil. *Pest Manag. Sci.*, 73(12): 2569–2577.

Chen CY, Kang ZJ, Shi XY, Gao XW, 2015. Metabolic adaptation mechanisms of insects to plant secondary metabolites and their implications for insecticide resistance of insects. *Acta Entomol. Sin.*, 58(10): 1126–1139. [陈澄宇, 康志娇, 史雪岩, 高希武, 2015. 昆虫对植物次生物质的代谢适应机制及其对昆虫抗药性的意义. 昆虫学报, 58(10): 1126–1139]

Chen LM, Huang J, Wu QC, Wu QQ, Pan YM, Lü YB, 2019. Laboratory test on the control efficacy of green insecticides against *Spodoptera frugiperda*. *J. Environ. Entomol.*, 41(4): 775–781. [陈利民, 黄俊, 吴全聪, 吴倩倩, 潘逸明, 吕要斌, 2019. 绿色杀虫剂对草地贪夜蛾杀虫活性比较测定. 环境昆虫学报, 41

(4): 775–781]

Chen QX, 2001. Induction and resistance of insect cytochrome P450. *J. Trop. Med.*, 1(1): 67–71. [陈秋霞, 2001. 昆虫细胞色素P450 的诱导和抗药性. 热带医学杂志, 1(1): 67–71]

Cordova D, Benner EA, Sacher MD, Rauh JJ, Sopa JS, Lahm GP, Selby TP, Stevenson TM, Flexner L, Gutteridge S, Rhoades DF, Wu L, Smith RM, Tao Y, 2006. Anthranilic diamides: a new class of insecticides with a novel mode of action, ryanodine receptor activation. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 84(3): 196–214.

Dai HY, Sun Y, Bai LX, Zhao J, Xiao LB, Tan YA, 2015. Activities of detoxification enzymes and expressions of related genes in *Spodoptera exigua* larvae treated with sublethal concentrations of emamectin benzoate. *Cotton Sci.*, 27(2): 149–158. [戴瀚洋, 孙洋, 柏立新, 赵静, 肖留斌, 谭永安, 2015. 亚致死浓度甲维盐胁迫对甜菜夜蛾幼虫解毒酶系活力及其相关基因表达量的影响. 棉花学报, 27(2): 149–158]

de Souza TP, 2013. Efeito dos inibidores de proteinase de soja no padrão de expressão de proteinases de *Spodoptera frugiperda*. PhD Dissertation, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.

do Nascimento ARB, Fresia P, Cônsoli FL, Omoto C, 2015. Comparative transcriptome analysis of lufenuron-resistant and susceptible strains of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *BMC Genomics*, 16: 985.

Dong J, Liu XX, Yue J, Qiao Y, Chu YN, Wang PS, Zhang QW, 2014. Resistance of *Mythimna separata* (Lepidoptera: Noctuidae) to five different types of insecticides in Beijing. *Chin. J. Pestic. Sci.*, 16(6): 687–692. [董杰, 刘小侠, 岳瑾, 乔岩, 褚艳娜, 王品舒, 张青文, 2014. 北京地区粘虫对 5 种杀虫剂的抗药性. 农药学学报, 16(6): 687–692]

Edi CV, Djogbénou L, Jenkins AM, Regna K, Muskavitch MAT, Poupardin R, Jones CM, Essandoh J, Kétoh GK, Paine MJ, Koudou BG, Donnell MJ, Ranson H, Weetman D, 2014. CYP6 P450 enzymes and *ACE*-1 duplication produce extreme and multiple insecticide resistance in the malaria mosquito *Anopheles gambiae*. *PLoS Genet.*, 10(3): e1004236.

Elzaki MEA, Zhang W, Han Z, 2015. Cytochrome P450 CYP4DE1 and CYP6CW3v2 contribute to ethiprole resistance in *Laodelphax striatellus* (Fallén). *Insect Mol. Biol.*, 24(3): 368–376.

Feyereisen R, 2006. Evolution of insect P450. *Biochem. Soc. Trans.*, 34(6): 1252–1255.

Francis F, Gerkens P, Harmel N, Mazzucchelli G, De Pauw E, Haubruge E, 2006. Proteomics in *Myzus persicae*: effect of aphid host plant switch. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 36(3): 219–227.

Giraudo M, Hilliou F, Fricaux T, Audant P, Feyereisen R, Le Goff G, 2015. Cytochrome P450s from the fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*): responses to plant allelochemicals and pesticides. *Insect Mol. Biol.*, 24(1): 115–128.

Goergen G, Kumar PL, Sankung SB, Togola A, Tamo M, 2016. First report of outbreaks of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), a new alien invasive pest in West and Central Africa. *PLoS ONE*, 11 (10): e0165632.

Gutiérrez-Moreno R, Mota-Sanchez D, Blanco CA, Whalon ME, Terán-Santofimio H, Rodriguez-Maciel JC, DiFonzo C, 2018. Field-evolved resistance of the fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) to synthetic insecticides in Puerto Rico and Mexico. *J. Econ. Entomol.*, 112(2): 792–802.

Hardke JT, Temple JH, Leonard BR, Jackson RE, 2011. Laboratory toxicity and field efficacy of selected insecticides against fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). *Fla. Entomol.*, 94 (2): 272–278.

Hu ZD, Chen HY, Li ZY, Zhang DY, Yin F, Lin QS, Bao HL, Zhou XM, Feng X, 2012. Found a field population of diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.), with high-level resistance to chlorantraniliprole in South China. *Guangdong Agric. Sci.*, 39(1): 79–81. [胡珍娣, 陈焕瑜, 李振宇, 张德雍, 尹飞, 林庆胜, 包华理, 周小毛, 冯夏, 2012. 华南小菜蛾田间种群对氯虫苯甲酰胺已产生严重抗性. 广东农业科学, 39(1): 79–81]

Li XX, Li R, Zhu B, Gao XW, Liang P, 2018. Overexpression of cytochrome P450 *CYP6BG1* may contribute to chlorantraniliprole resistance in *Plutella xylostella* (L.). *Pest Manag. Sci.*, 74(6): 1386–1393.

Li XX, Liang P, Gao XW, 2015. Research advances in resistance mechanisms of pest insects to diamide insecticides. *J. Plant Prot.*, 42(4): 481–487. [李秀霞, 梁沛, 高希武, 2015. 昆虫对双酰胺类杀虫剂抗性机制研究进展. 植物保护学报, 42(4): 481–487]

Liu J, Jiang YY, Liu WC, Li YH, Zeng J, Yang QP, 2019. Investigation and forecast techniques of *Spodoptera frugiperda*. *China Plant Prot.*, 39 (4): 44–47. [刘杰, 姜玉英, 刘万才, 李亚红, 曾娟, 杨清坡, 2019. 草地贪夜蛾测报调查技术初探. 中国植保导刊, 39 (4): 44–47]

Liu JJ, Su X, Li YS, Xie LF, Zhang BZ, Chen XL, 2019. Effects of chlorantraniliprole and fipronil on cytochrome P450 genes in oriental armyworm *Mythimna separata*. *J. Plant Prot.*, 46(3): 563–573. [刘俊杰, 苏栩, 李亚设, 谢兰芬, 张百重, 陈锡岭, 2019. 氯虫苯甲酰胺和氟虫腈对黏虫细胞色素 P450 基因表达的影响. 植物保护学报, 46(3): 563–573]

Liu Y, Qi M, Chi Y, Wuriyanghan H, 2016. De novo assembly of the transcriptome for oriental armyworm *Mythimna separata* (Lepidoptera: Noctuidae) and analysis on insecticide resistance-related genes. *J. Insect Sci.*, 16(1): 92.

Monnerat R, Martins E, Macedo C, Queiroz P, Praça L, Soares CM, Moreira H, Grisi I, Silva J, Soberon M, Bravo A, 2015. Evidence of field-evolved resistance of *Spodoptera frugiperda* to Bt corn expressing Cry1F in Brazil that is still sensitive to modified Bt toxins. *PLoS ONE*, 10(4): e0119544.

Okuma DM, Bernardi D, Horikoshi RJ, Bernardi O, Silva AP, Omoto C, 2018. Inheritance and fitness costs of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) resistance to spinosad in Brazil. *Pest Manag. Sci.*, 74(6): 1441–1448.

Pan YX, 2005. Recent progress on pest resistance to *Bacillus thuringiensis*. *Entomol. J. East China*, 14(4): 353–357. [潘有祥, 2005. 害虫对苏云金杆菌的抗性研究进展. 华东昆虫学报, 14(4): 353–357]

Pfaffl MW, 2001. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic Acids Res.*, 29(9): e45.

Qiu XH, 2014. Molecular mechanisms of insecticide resistance mediated by cytochrome P450s in insects. *Acta Entomol. Sin.*, 57(4): 477 – 482. [邱星辉, 2014. 细胞色素 P450 介导的昆虫抗药性的分子机制. 昆虫学报, 57(4): 477 – 482]

Riveron JM, Irving H, Ndula M, Barnes KG, Ibrahim SS, Paine MJ, Wondji CS, 2013. Directionally selected cytochrome P450 alleles are driving the spread of pyrethroid resistance in the major malaria vector *Anopheles funestus*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 110(1): 252 – 257.

Togola A, Meseka S, Menkir A, Badu-Apraku B, Boukar O, Tamò M, Djouaka R, 2018. Measurement of pesticide residues from chemical control of the invasive *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in a maize experimental field in Mokwa, Nigeria. *Int. J. Environ. Res. Public. Health*, 15(5): 849.

Van Pottelberge S, Van Leeuwen T, Van Amermaet K, Tirry L, 2008. Induction of cytochrome P450 monooxygenase activity in the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae*, and its influence on acaricide toxicity. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 91(2): 128 – 133.

Wang X, Khakame SK, Ye C, Yang Y, Wu Y, 2013. Characterisation of field-evolved resistance to chlorantraniliprole in the diamondback moth, *Plutella xylostella*, from China. *Pest Manag. Sci.*, 69(5): 661 – 665.

Wang X, Wu Y, 2012. High levels of resistance to chlorantraniliprole evolved infield populations of *Plutella xylostella*. *J. Econ. Entomol.*, 105(3): 1019 – 1023.

Wang XG, Yu HL, Liang P, Shi XY, Song DL, Gao XW, 2015. Chlorantraniliprole induces up-regulated expression of cytochrome P450 genes in *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae). *Acta Entomol. Sin.*, 58(3): 281 – 287. [王学贵, 余慧灵, 梁沛, 史雪岩, 宋敦伦, 高希武, 2015. 氯虫苯甲酰胺诱导甜菜夜蛾细胞色素 P450 基因上调表达. 昆虫学报, 58(3): 281 – 287]

Wang YQ, Ma QL, Tan YT, Zheng Q, Yan WJ, Yang S, Xu HH, Zhang ZX, 2019. The toxicity and field efficacy of chlorantraniliprole against *Spodoptera frugiperda*. *J. Environ. Entomol.*, 41(4): 782 – 788. [王勇庆, 马千里, 谭煜婷, 郑群, 闫文娟, 杨帅, 徐汉虹, 张志祥, 2019. 氯虫苯甲酰胺对草地贪夜蛾的毒力及田间防效. 环境昆虫学报, 41(4): 782 – 788]

Xia YM, Lu YH, Zhu X, Shen J, You H, Li JH, 2013. Determination of *Plutella xylostella* (L.) resistance to nine insecticides in central China. *China Veg.*, (22): 75 – 80. [夏耀民, 鲁艳辉, 朱勋, 申君, 游红, 李建洪, 2013. 华中地区小菜蛾对 9 种杀虫剂的抗药性测定. 中国蔬菜, (22): 75 – 80]

Xu L, Zhao CQ, Xu DJ, Xu GC, Xu XL, Gu ZX, 2017. Effects of sublethal sulfoxaflor on cytochrome P450 of the small brown planthopper, *Laodelphax striatellus*. *J. Plant Prot.*, 44(4): 679 – 686. [徐鹿, 赵春青, 徐德进, 徐广春, 许小龙, 顾中言, 2017. 亚致死剂量氟啶虫胺腈对灰飞虱细胞色素 P450 的影响. 植物保护学报, 44(4): 679 – 686]

Yang P, Chen XM, Liu WW, Feng Y, Sun T, 2015. Transcriptome analysis of sexually dimorphic Chinese white wax scale insects reveals key differences in developmental programs and transcription factor expression. *Sci. Rep.*, 5: 8141.

You L, Wang GL, Tian SX, Wei HY, 2013. Sublethal effects of four low-toxicity insecticides on the development and reproduction of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *J. Plant Prot.*, 40(6): 551 – 556. [游灵, 王广利, 田生荣, 魏洪义, 2013. 四种低毒杀虫剂对小菜蛾生长发育及繁殖的亚致死效应. 植物保护学报, 40(6): 551 – 556]

Zhang BZ, Ma KS, Liu JJ, Lu LY, Xie LF, Kong FB, Chen XL, Gao XW, 2018. Effects of imidacloprid or sulfoxaflor on the expression of cytochrome P450 genes in greenbug (*Schizaphis graminum* Rondan) based on RNA sequencing. *Chin. J. Pestic. Sci.*, 20(6): 749 – 757. [张百重, 马康生, 刘俊杰, 卢留洋, 谢兰芬, 孔凡彬, 陈锡岭, 高希武, 2018. 基于转录组测序技术分析吡虫啉或氟啶虫胺腈对麦二叉蚜细胞色素 P450 基因表达的影响. 农药学学报, 20(6): 749 – 757]

Zhang QH, Sun LL, Liu P, Cao CW, 2018. Stress response of transgenic *Lymantria dispar* CYP6B53 gene *Drosophila* strains to two insecticides. *J. Jilin Agric. Univ.*, 40(2): 152 – 156. [张琪慧, 孙丽丽, 刘鹏, 曹传旺, 2018. 转舞毒蛾 CYP6B53 基因果蝇品系对 2 种杀虫剂的胁迫响应. 吉林农业大学学报, 40(2): 152 – 156]

Zhao SY, Sun XX, Zhang HW, Yang XM, Wu KM, 2019. Laboratory test on the control efficacy of common chemical insecticides against *Spodoptera frugiperda*. *Plant Prot.*, 45(30): 10 – 14. [赵胜园, 孙小旭, 张浩文, 杨现明, 吴孔明, 2019. 常用化学杀虫剂对草地贪夜蛾防效的室内测定. 植物保护, 45(30): 10 – 14]

Zhu F, Parthasarathy R, Bai H, Woithe K, Kaussmann M, Nauen R, Harrison DA, Palli SR, Berenbaum MR, 2010. A brain-specific cytochrome P450 responsible for the majority of deltamethrin resistance in the QTC279 strain of *Tribolium castaneum*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 107(19): 8557 – 8562.

Zhu YH, 2018. Resistant Mechanism of Cytochrome P450 Mediated *Schizaphis graminum* on Insecticides. MSc Thesis, Henan Institute of Science and Technology, Xinxiang, Henan. [朱英慧, 2018. 细胞色素 P450 介导的麦二叉蚜对杀虫剂的抗性机制. 河南新乡: 河南科技学院硕士学位论文]

(责任编辑: 赵利辉)